

⑮ Int. Cl.⁴

A 61 L 27/00

識別記号

庁内整理番号

6779-4C

⑬ 公開 昭和60年(1985)12月14日

審査請求 未請求 発明の数 4 (全4頁)

⑭ 発明の名称 骨形成因子を含有する生体材料とその製造方法

⑯ 特 願 昭59-109020

⑰ 出 願 昭59(1984)5月28日

⑱ 発 明 者 高 岡 邦 夫 池田市満寿美町1丁目12番203号

⑲ 出 願 人 京セラ株式会社 京都市山科区東野北井ノ上町5番地の22

⑲ 出 願 人 新田ゼラチン株式会社 八尾市二俣418番地

明 細 書

1. 発明の名称

骨形成因子を含有する生体材料とその製造方法

2. 特許請求の範囲

(1) 支持体としてのコラーゲンもしくは、その誘導体に骨形成因子を含有したことを特徴とする生体材料。

(2) 支持体としてのコラーゲンもしくは、その誘導体と生体親和性材料に骨形成因子を含有したことを特徴とする生体材料。

(3) 骨形成因子とコラーゲンもしくは、その誘導体を所定の比率で混合することを特徴とする生体材料の製造方法。

(4) 骨形成因子とコラーゲンもしくは、その誘導体を所定の比率で混合して複合体を作り、該複合体を生体親和性材料に付着せしめることを特徴とする生体材料の製造方法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は整形外科、口腔外科などの外科領域にて用いる骨形成因子を含有する生体材料とその製

造方法に関するものである。

従来から、例えば生体における骨欠損部を補綴する場合、主に自家骨を採取して移植することが行われていた。かかる自家骨では移植床への生着性が良く最適なものである。

しかしながら、自家骨の採取量には自から限界があり、採骨のための手術侵襲が拡大し、患者に与える苦痛が大きい。また骨の欠損部が広汎な場合には金属あるいはセラミックなどの生体親和性を有する材料を用いて欠損部の補綴および固定が行われていた。

ところが、かかる人工の生体材料をそのまま用いた場合、骨と生体材料とが早期に、かつ十分な強度をもった状態で接合し難いという欠点があった。その原因として考えられることは生体材料の周囲(表面)に十分な量の骨組織が形成されないためであり、したがって従来の生体材料を用いる外科治療では早期に、かつ強固なる生体の硬組織を得ることが困難であった。

本発明は上述の如き従来の生体材料の有する欠

点に鑑みて開発したものであって、支持体とするコラーゲンもしくはコラーゲン誘導体に骨形成因子を複合させた生体材料や、さらに所要の形状のセラミック体など、生体親和性をもった材料に上記複合体を付着せしめた生体材料を骨欠損部の補填及び固定に用いることにより骨の増生修復を促進し、早期に、かつ十分な強度をもった状態の骨組織を得んとするものである。

以下、本発明を具体的に詳述する。

本発明における生体材料の主要素は骨形成因子が成すが、この骨形成因子は古くから生体中に、その存在が予想されていた物質である。

この骨形成因子の作用は未分化の間葉系細胞に対して細胞外から作用して、その遺伝形質を軟骨細胞や骨芽細胞へと誘導し局所に骨組織を形成させることにある。その後、永年にわたる研究の結果、Dunn骨肉腫から骨形成因子を分離、精製する方法を開発し、すでにBiomedical Research 2 (5) 466-471、(1981)にて報告した。この物質は分子量約20,000の塩基性で疎水性のポリペプチドで

ある。また、最近動物で継代移植したヒト骨肉腫からも同様な生物活性を有する骨形成因子を分離精製した。

このヒト骨形成因子もDunn骨肉腫から得られる骨形成因子とはほぼ同様の生化学的特性を有しており、本発明においては抗原性の問題から、このヒト骨形成因子を使用した。

かかる如く、ヒト骨形成因子は生体内にて骨形成作用を発現するが、骨形成にはある種の支持体が必要であり、形成される骨の量は骨形成因子を含有する支持体の量によって規定される。したがって、生体内にて骨形成因子を支持するため次のような第1次及び第2次の支持体を区分した。

第1次支持体は骨形成因子を含有、担持するとともに生体内にし基質を成し、骨を形成せしめることを可能とし、第2次支持体は因子を担持した第1次支持体を付着し、所要の形状を保持し、かつ必要な強度を持った成形体を得るためのものである。これらの支持体には次のような特性が要求される。

第1次支持体としては、

- ① 生体内に埋入した時に異物反応を起こさないこと。
- ② 骨との親和性を有すること。
- ③ 工業的に安定して容易に、かつ安価に入手できること。
- ④ 骨形成因子の特性を損なわず、安定的に保持し、かつ任意の比率で混合できること。
- ⑤ 最終的に生体に吸収され得ること。
- ⑥ 第2次支持体に容易に付着できること。

また、第2次支持体としては、

- ① 上記の第1次支持体の①～④の特性をもつこと。
- ② 長期間にわたって特性が変化しないこと。
- ③ 第1次支持体との物理的結合が容易であること
- ④ 機械的強度が大きいこと。

などの特性を具備していることが必要である。このような特性をもった第1次支持体とする材料について種々研究を重ねたところコラーゲンやその誘導体などが、上記の必要特性を満足し得た。

ところで、第1次支持体とするコラーゲン(そ

の誘導体を含む、以下同じ)は一般に抗原性の少ない蛋白質であることは良く知られたことであり、またコラーゲンの抗原性の原因となる主たる部分は分子末端部分であるテロペプチド部にあることも知られている。したがって、例えば牛皮を公知の方法である酵素処理法やアルカリ処理法によって可溶化し精製された実質的にテロペプチドを含まない可溶化コラーゲンが本発明の目的には好ましいが、これらに限定されるものではない。またコラーゲンの変成体であるゼラチン(その分解物、誘導体を含む)も本発明の構成に適用し得ることは容易に理解されよう。

次に第2次支持体としての要件は上記の通りであるが、このうち、生体に対して異物反応を起こさず、親和性があり、かつ機械的強度の大きな物体としてはセラミック材や特殊な金属、合成樹脂などがすぐれた材料として知られている。これらのうち、生体親和性にすぐれたセラミック材を挙げると第1表の通りである。

この第1表に挙げたセラミック材のうち、最も

第 1 表

	曲げ強さ (kg/cm ²)	硬 度	かさ比重	耐薬品性 95% H ₂ SO ₄ 煮沸液中 mg/cm ² /day
アルミナセラミック (Al ₂ O ₃)	3,200	1,000 ~ 2,300 (H V)	3.6 ~ 4.0	0.1
サファイア (Al ₂ O ₃)	7,000	2,300 (H V)	3.97	0.1
ジルコニア (ZrO ₂)	10,000	1,250 (H V)	5.9	0.8
炭化珪素 (SiC)	5,000	94 (HRA)	2.2 ~ 3.1	0.04
窒化珪素 (Si ₃ N ₄)	5,000	87~91 (HRA)	2.9 ~ 3.3	0.42
リン酸カルシウム (Ca ₃ (PO ₄) ₂)	1,400	—	3.0 ~ 3.05	酸に可溶 塩基に難溶
ヒドロキシ アパタイト (Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂)	600 ~ 2,000	400 ~ 600	3.06~3.13	↑
ガラスセラミック (含アパタイト)	1,500 ~ 1,700	600 ~ 700	約3.0	↑

一般的なもののがアルミナセラミックで、生体に対する為害性がなく、親和性が大きい。さらに、親和性があり、機械的強度の大きいものではサファイア、ジルコニアセラミックなどがあり、その他生体骨の組成に近いリン酸カルシウム、ヒドロキシアパタイトなどでは機械的強度が若干小さいものの生体骨との同化性、癒着性がよいという特長をもっている。したがって、これらのセラミック材は使用個所や目的に応じて、最適のものが用いられる。なお、セラミック材の性状としては緻密質あるいは多孔質などそれぞれの目的に応じたものを使用すればよい。

(実施例 1)

若い牛皮の真皮層をよく洗浄精製した後、肉挽機で細断し、塩酸溶液を加えて PH 3 に調整したものに乾燥重量の 2 % 量のペブシンを加えて 20℃ で 48 時間処理した。処理液を濾過し、濾液にカ性ソーダを加えて PH 10 にしてペブシンを失活後、PH 7 に調整し、生じた沈殿を回収し、良く水洗した後、PH 3 の塩酸溶液に再溶解した。

この液を濾過後、再びカ性ソーダを加えて PH 7 に調整し、生じた沈殿を回収して、よく水洗してから PH 3 の塩酸溶液に再溶解し、濃度 3.0mg/ml の精製コラーゲン溶液を得た。

次に前記文献に記載されている方法によって得た精製骨形成因子を 0.01 規定の塩酸に溶解し、濃度 1.0 mg/ml の溶液とし、その 0.2 ml を試験管にとり、上記コラーゲン溶液 1.0 ml を加えてよく混合した。この混合液を凍結乾燥し、次いでエチレンオキサイドガスにて滅菌して生体材料を得た。

この生体材料をマウスの背部筋間内に移植し、3 週間後に移植物を採りだした結果、移植物は、湿重量で 20 mg の骨組織に置換されていた。

(実施例 2)

実施例 1 でのべた骨形成因子とコラーゲンの混合溶液 1.2 ml に、一辺が 5 mm の正方形で角を落とした厚み 2mm、気孔率 40% のヒドロキシアパタイト、又はアルミナセラミック体の円板状体を浸し、真空処理を行い混合液をセラミック体によく

浸透せしめた後、凍結乾燥及びガス滅菌を行い移植用生体材料を得た。この生体材料をマウス背部筋肉内に移植し、3 週間後に移植物を取り出した結果、第 2 次支持体の表面に骨組織の増生が認められた。この場合、第 2 次支持体としてヒドロキシアパタイトを用いた場合もアルミナセラミックを用いた場合もほぼ同等の結果であった。

(実施例 3)

牛骨を原料として通常の石灰処理法で得たゼラチン（粘度：44 mp、ゼリー液度：253 Bloom、PH：5.8、水分：11.0%）を精製水に溶解し濃度 50mg/ml のゼラチン溶液を得た。

実施例 1 で述べた骨形成因子の塩酸溶液 0.2 ml を取り上げゼラチン溶液 1.0 ml を加えてよく混合した後、冷蔵庫中で一夜放置して混合液をゲル化した。このゲル状物をグルタルアルデヒド 0.1 % を含む 0.02M リン酸緩衝液（pH 7.2）100 ml に 5℃ で 16 時間浸漬し、架橋処理を行った。次にゲル状物を取り出し、精製水で十分に洗浄した後、凍結乾燥で、ガス滅菌して移植用生体材料

を得た。

この生体材料をマウス背部筋肉に移植した結果、
実施例1とほぼ同様の結果を得た。

(実施例4)

実施例3と同様にして得た骨形成因子とゼラチンの混合溶液1.2 mlに実施例2で用いたヒドロキシアパタイト又はアルミナセラミック体を浸し、真空処理して混合溶液をセラミック体によく浸透せしめた後、冷蔵中で一夜放置してゼラチンをゲル化した。このセラミック体を含むゲル状物を実施例3と同様にグルタルアルデヒドを含むリン酸緩衝液で処理し、水洗、凍結乾燥及びガス滅菌して移植用生体材料を得た。

この生体材料は実施例2と同様の結果を得た。

以上の実施例から明らかなように本発明に係る生体材料においては骨形成因子の生物学的作用は種特異性が極めて低いことがすでに知られており、上記実施例からみて整形外科、口腔外科などの臨床領域において極めて有効である。

特許出願人 京セラ株式会社 外1名